

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

SUR LES PROTOZOAires DES PLANTES

par G. FRANCHINI.

Depuis la découverte faite par Lafont de flagellés dans le latex des Euphorbes, les études sur les protozoaires des plantes, surtout celles sur les protozoaires des plantes à latex, se sont intensifiées. Des flagellés et des protozoaires ont été trouvés dans plusieurs pays, spécialement dans les régions tropicales. Une partie des plantes parasitées sont malades, elles jaunissent, se flétrissent, leurs feuilles tombent, leur développement est sérieusement entravé.

Des plantes saines ont été infectées à l'aide du latex des plantes parasitées.

Nous nous proposons d'exposer dans ce mémoire les recherches que nous avons faites, d'une part sur des plantes contenant du vrai latex, d'autre part sur celles qui n'en contiennent pas.

Les plantes sont groupées par ordre de familles.

I. — Plantes à latex.

EUPHORBIACÉES. — Nous avons vu des flagellés du type *Leptomonas* et *Herpetomonas* dans plusieurs espèces d'Euphorbiacées (*E. segetalis*, *E. dulcis*, *E. falcata*, *E. grandis*, etc.) et des trypanosomides dans le latex de *E. nereifolia*, *E. virosa*, *E. drupifera*, *E. antiquorum*, *E. emarginata*, etc.

Infection expérimentale.

Nous avons réussi à infecter des pieds de *E. pilosa* avec des cultures des flagellés de la *puce du chien* (*Herp. ctenocephali*) et des pieds d'*E. ipecacuanha* avec des cultures de *kala-azar*.

Dans le latex de différentes espèces d'*Euphorbes* nous avons cultivé des flagellés d'insectes et des trypanosomes, y compris un trypanosome humain (*Trypanosoma Cruzi*).

ASCLÉPIADACÉES. — Nous avons pu voir des flagellés et des amibes dans le latex de deux Asclépiadacées : *Cryptostegia grandiflora* et *Chlorocodon Witei*.

Les amibes du latex de *Chlorocodon Witei* ont cultivé en milieu de Nöller sur plaques.

APOCYNÉES. — Les amibes étaient assez fréquentes dans le latex de différentes espèces de *Strophantus*, dans le latex de *Thevetia nereifolia*, de *Cerbera odollam* et de *Plumeria alba*.

Dans le latex d'*Acokanthera venenata* et de *Caudrania javanensis*, nous avons vu des protozoaires semblables à des trypanosomes.

Les amibes de *Strophantus rigali cornu* ont très bien cultivé dans le milieu de Nöller. Ces cultures, très riches, montraient des amibes de toutes sortes et de toutes dimensions. On y trouvait des formes de multiplication par schizogonie, d'autres se multipliaient par *bipartition*. Un certain nombre de ces amibes phagocytaiient les globules rouges.

L'inoculation de ces amibes dans le rectum des chats s'est montrée pathogène.

URTICACÉES. — On rencontre des amibes, des trypanosomides et des flagellés dans le latex de certaines espèces de *Ficus*.

Dans le latex de *Ficus carica* de la région parisienne, nous avons pu voir quelquefois des amibes qui ont très bien cultivé et qui phagocytaiient les globules rouges.

ARTOCARPÉES, SAPOTACÉES, MÉNISPERMÉES, ANACARDIACÉES, etc. — On rencontre des protozoaires, et spécialement des amibes, dans le latex des différentes plantes des deux premières familles. Nous avons vu de très belles amibes dans le latex de *Antiaris toxicaria* et de *Lacoocha artocarpus*; elles étaient plus rares dans le latex des plantes des autres familles.

COMPOSÉES. — Dans le latex d'un spécimen de *Lactuca saliva*, nous avons pu voir des amibes de toutes sortes et de toutes dimensions. Elles se multipliaient par *bipartition* et par *schizogonie*. Dans d'autres laitues on trouvait également des bactéries, parfois en culture pure.

Spirochètes dans le latex des Euphorbes.

Dans le latex d'un plant d'*E. peplis* des environs de Syracuse (Sicile), nous avons vu un certain nombre de Spirochètes, libres ou en amas, plus longs et plus gros que les spirochètes humains, ressemblant aux spirochètes de certains insectes vivant sur les plantes; ils étaient bien mobiles à l'état frais.

II. — Plantes sans latex.

FLAGELLOSE DU CHOU. — Dans les tissus des feuilles d'un chou très malade, nous avons vu des flagellés de différentes formes et dimensions.

Certains parasites avaient un long flagellé (*Herpetomonas*), d'autres avaient un flagellé plus court pourvu d'une petite membrane (*Crithidia*); d'autres avaient l'aspect de *Trypanosomides*.

Sur la surface des feuilles de ce chou nous avons recueilli une quantité de punaises (*Pentatomidæ*); celles-ci hébergeaient dans leur tube digestif de nombreux flagellés, ce qui rend très probable l'hypothèse que les flagellés du chou sont les mêmes que les flagellés des punaises qui vivent sur ses feuilles. En effet, les fèces de ces punaises sont nombreuses à la surface de ces feuilles; or, dans ces fèces, les flagellés et leurs formes enkystées sont assez fréquents.

III. — Transmission des protozoaires des plantes à latex.

Relativement à la transmission des différents protozoaires des plantes à latex, il faut admettre que celle-ci est due, non pas seulement à une seule, mais à plusieurs espèces d'insectes (*Hémiptères* ou *Muscides*).

Parmi les *Hémiptères*, nous devons surtout prendre en considération les *Stenocephalus* et les *Nysius*; parmi les *Muscides*, nous avons déjà décrit des flagellés trouvés dans le tube digestif de certaines mouches vivant sur les plantes (*Antomyia maculata* et *Graphomyia maculata*); ces flagellés sont morphologiquement semblables au *Leptomonas Davidi*. Il est notoire que, surtout dans les pays chauds, les mouches domestiques et autres hébergent dans leur tube digestif des flagellés.

La transmission de ces flagellés peut se faire, soit à l'aide des piqûres, soit à l'aide des fèces parasitées. Les parasites des fèces, en général plus résistants que les autres, déposés sur les feuilles ou sur les tiges, peuvent aisément pénétrer, à travers de petites lésions, à l'intérieur des plantes.

Au sujet de la spirochétose des Euphorbes, nous avons précédemment signalé que, dans le tube digestif des *Lygus*, des *Nysius* et des *Sarcophagidæ*, capturés sur des Euphorbes (et aussi sur d'autres plantes), nous avons pu voir de nombreux spirochètes morphologiquement identiques à ceux du latex des Euphorbes.

Conclusions.

1^o Il ressort de ce qui précède que, dans les latex de différentes plantes, et dans des plantes sans latex, nous avons constaté la présence de protozoaires, flagellés ou non, ayant le même aspect que ceux qui se trouvent chez les invertébrés (insectes) et chez les vertébrés, soit à température variable, soit à température constante;

2^o Nous avons réussi à infecter des plantes à l'aide de cultures de parasites d'insectes et de parasites de l'homme (kala-azar). Nous avons réussi, en outre, à cultiver, dans divers latex,

différents protozoaires parasites des animaux et de l'homme (trypanosomies);

3^e Les plantes hébergeant des protozoaires sont souvent malades. Étant donné que, chez les plantes, on trouve des protozoaires parasites de l'homme et des animaux, on peut légitimement supposer que des végétaux servent parfois de réservoirs aux virus des maladies à protozoaires.

Il paraît probable que plusieurs maladies des plantes, inconnues ou mal connues, attribuées à des virus indéterminés, ont leur étiologie dans la présence des protozoaires.

Depuis quelques années déjà, le professeur Petri, de l'Ecole forestière de Florence, a décrit, dans une maladie de la vigne (roncet), des corps spéciaux ressemblant beaucoup à des protozoaires (trypanosomides).

M. Ray Nelson a, d'autre part, trouvé des protozoaires (1), flagellés ou non, mobiles à l'état frais, dans la mosaïque de la tomate, du haricot et du trèfle; il a aussi découvert des trypanosomides dans l'enroulement de la feuille de la pomme de terre.

Frank P. M. Worther décrit un protozoaire semblable à une amibe qui serait la cause d'une maladie de la canne à sucre (*galle de Fiji*). Il a cultivé cette amibe dans le suc de canne à sucre et, dans cette culture, il a pu observer le cycle de développement du parasite, de la forme enkystée à la forme végétative. Le parasite de ces cultures ressemble beaucoup à celui que nous avons obtenu dans les cultures des amibes ou dans celles d'autres protozoaires de différents latex.

* * *

Nous ne discuterons pas la question de savoir si les parasites décrits par Nelson, par Worther et par d'autres sont, ou non, les agents étiologiques des maladies des plantes hébergeant ces protozoaires; pour le savoir, il faudrait inoculer les parasites eux-mêmes ou les cultures de ces parasites à des plantes saines. On verrait ainsi s'ils sont capables de donner la maladie.

(1) Il faut noter que des recherches postérieures à celles de Nelson semblent démontrer que les parasites décrits par Nelson ne sont pas des protozoaires.

Pour ce qui concerne la mosaïque des plantes, nous savons déjà que son agent est en général filtrable et très résistant soit à la chaleur, soit au froid et aux agents chimiques. Ce ne sont point là les caractères habituels des protozoaires, à moins que l'on admette qu'il y ait des stades dans lesquels certains d'entre eux seraient très petits et très résistants.

Nous avons pu examiner, grâce à l'amabilité de M. Foex, de la Station de pathologie végétale de Paris, et de M. Ducomet, de l'Ecole nationale d'agriculture de Grignon, des pommes de terre affectées de la mosaïque et de l'enroulement. Nous avons examiné avec beaucoup de soin les petites branches et les feuilles malades, mais nous n'avons pu voir ni protozoaires, ni parasites d'aucune sorte.

Désormais, dans l'étude des maladies des plantes, il faudra tenir compte des différences morphologiques existant entre les protozoaires des plantes et les protozoaires des animaux.

On sait, en effet, qu'un protozoaire modifie sa forme selon le milieu dans lequel il se développe ou est cultivé. Des parasites qui, dans l'organisme humain (*Leishmania*), sont petits et n'ont pas de flagelle, deviennent très longs et flagellés dans les cultures. C'est déjà beaucoup qu'un protozoaire d'une plante puisse être cultivé dans un milieu sanguin ou qu'une amibe des plantes soit capable de phagocyter des globules rouges, et qu'elle puisse se multiplier dans l'intestin d'un chat. Migone a cultivé, dans un milieu composé de gélose et de sang humain, des flagellés d'une Asclépiadacée (*Morrenia odorata*); ces cultures ont été très riches et très toxiques pour les animaux. Nous-mêmes avons réussi à infecter des souris et de jeunes chats à l'aide de protozoaires du latex des plantes.

* * *

Il serait à souhaiter que, dans tous les pays, on s'applique à rechercher et à étudier les protozoaires afin d'établir la répartition géographique et l'importance pathogénique de ces flagelloses végétales. Les protozoaires des plantes, que l'on croyait propres aux régions tropicales, ont pu être retrouvés récemment dans des pays dont la température n'est pas très élevée, comme la France et la Suisse. Dans ce dernier pays on

a trouvé des parasites dans le latex des Euphorbes à une altitude de 1.200 mètres (1).

(1) Le Dr Schoevers, directeur du service de phytopathologie à Wageningen, a exposé au Congrès qui s'est tenu récemment dans cette ville, et auquel j'ai donné communication des faits relatés dans ce mémoire, ses recherches sur une maladie des racines des épinards.

Dans des microphotographies de coupes et dans des coupes de racines malades, nous avons pu voir des corps ronds ou ovalaires ayant un ou plusieurs noyaux et des vacuoles dans le protoplasma.

Ces corps ont l'aspect d'amibes.

Le Dr Neuschultz, de l'Université d'Utrecht, a fait une courte communication sur la présence de protozoaires dans le latex de *Eu. palustris* aux environs d'Utrecht. Ces protozoaires présentaient à l'état frais des mouvements amiboides. La plante qui hébergeait les parasites paraissait malade.

Le Dr Mayné, de Bruxelles, a fait un court exposé sur des flagellés qui ont été vus par lui dans le latex de certaines espèces d'euphorbes, au Congo belge. Ces euphorbes paraissaient malades.

Le Dr Stähel, médecin colonial aux Indes Néerlandaises, ayant été, peu de temps avant le Congrès, à Wageningen, a déclaré à plusieurs collègues avoir vu à Paramaribo (Surinam) des trypanosomes dans le latex de différentes espèces d'euphorbes.

Il ressort donc de ce que nous venons de dire que la présence déjà signalée par nous d'amibes et des trypanosomes dans les plantes a été confirmée par plusieurs observateurs dans différents pays.

BIBLIOGRAPHIE

G. FRANCHINI, Série de travaux sur les protozoaires des plantes. *Bull. de la Soc. de path. exotique*, 1919-1923.

T. A. C. SCHOEVERS, Vreemde Lichaampjes in zieke Spinaziewortels. *Institut voor phytopathologie*. H. Veenmann Wageningen, 1918.

— Congrès de phytopathologie et entomologie végétale. Wageningen (Hollande), 25-30 juin 1923.

L. E. MIGONE, Flagellados de las plantas. *Revista de la Sociedad científica del Paraguay*, n° 3, Asuncion, 1922.

FRANK P. M. WORTHER, The nature of the organism found in the Fiji galls of sugar cane. *The Philippine Agriculturist*, 41, n° 4, novembre 1922.

RAY NELSON, The occurrence of protozoa in Plants affected with Mosaic and related diseases. Agricultural experiment station. Michigan agricultural college. *Technical Bulletin*, n° 58, décembre 1922.

J. E. KOTILA et G. H. COONS, Trypanosome like Bodies in Solanaceous plants. *Phytopathology*, 13, n° 7, juillet 1923.

S. P. DOOLITTLE et H. H. MC. KINNE, Intracellular Bodies in the Phloem tissue of certain plants and their bearing on the Mosaic problem. *Phytopathology*, n° 5, 1923.

CHARLES A. KOFOID, HENRY H. T. SEVERIN et OLIVE SWEZY, Nelson's Spiral Bodies in tomato Mosaic not Protozoan. *Phytopathology*, n° 7, 1923.

IRVING. W. BAILEY, Slime bodies of Robinia pseudo Acacia L. *Phytopathology*, n° 7, 1923.

LE VIRUS NEUROTROPE ET LE *SPIROCHÆTA CUNICULI*

par A. KLARENBEEK.

Dans cette publication, je négligerai la question de l'identité du *virus neurotrophe* de Levaditi et Marie, obtenu par inoculation de sang d'un paralytique général au lapin et conservé par passages sur le lapin, avec le *Spirochæta cuniculi* provenant d'une infection spontanée du lapin. On ne pourra rejeter complètement l'hypothèse d'une infection spontanée au cours de la longue incubation qu'en étudiant *un grand nombre de souches* de spirochètes isolés du sang, du liquide cérébro-spinal ou du cerveau d'un paralytique général. En parlant dans ce mémoire de *virus neurotrophe*, j'ai en vue le *virus neurotrophe* de Levaditi et Marie.

Les études expérimentales du *Spirochæta cuniculi* sont le point de départ d'une nouvelle période dans l'étude de la syphilis expérimentale. Le lapin doit être considéré, en général, comme un animal moins favorable pour l'expérimentation parce qu'il peut entraîner des causes d'erreur (1). Mais, c'est surtout la théorie de la dualité du *Treponema pallidum*, soutenue par Levaditi et Marie (2), qui a obtenu une grande vogue. Pour eux, les souches du *virus neurotrophe* présentent entre elles peu de différences, mais en montrent beaucoup avec le *virus dermotrope*, originaire d'un chancre syphilitique (souche de Truffi) et ont une analogie frappante avec le *Spirochæta cuniculi*.

Jahnel (3) et Klarenbeek (4) ont montré que les ressemblances morphologique et biologique de ces deux spirochètes pourraient s'expliquer par une infection spontanée avec le

(1) KLARENBEEK. *Centralblatt f. Bakter.*, 1^{re} partie, *Orig.*, 87, 1921, n° 3.

(2) LEVADITI et MARIE. *Ces Annales*, 23, 1920, n° 41.

(3) JAHNEL. *Zeitsch. f. Neurologie u. Psychiatrie*, 73, fasc. 1/3, 1921, et *Arch. f. Dermat. u. Syphilis*, 135, 1921, p. 232.

(4) KLARENBEEK. *Tijdschr. v. Diergeneeskunde*, Deel, 48, atl. 21, 1920; *Centralblatt f. Bakter.*, 1^{re} partie, *Orig.*, 88, 1922, fasc. 1.

Spirochæta cuniculi des lapins qui ont été inoculés avec le sang d'un paralytique général.

De leurs nouvelles recherches (1) Levaditi et Marie concluent, d'après les différences biologiques trouvées, que le *virus neurotrophe* de leurs souches n'est pas identique au *Spirochæta cuniculi*.

En étudiant cette question ils ont trouvé des différences entre les deux spirochètes, basées sur des expériences d'immunité croisée et sur l'aspect histopathologique des lésions. Ils ne pouvaient qu'affirmer ce qu'on avait déjà constaté plus tôt : que l'incubation, l'aspect macroscopique des lésions, l'évolution des papulo-squames et la virulence des deux spirochètes pour l'homme, le singe et le lapin sont les mêmes.

Les différences histopathologiques des lésions sont peu marquées; ce ne sont pas des différences caractéristiques, mais seulement d'intensité. Il est très probable qu'on obtiendrait des résultats tout différents en faisant les mêmes expériences avec d'autres souches du virus neurotrophe ou du *Spirochæta cuniculi*.

Dans des expériences d'immunité croisée, Levaditi et Marie ont pu montrer qu'un lapin guéri d'une infection du *Spirochæta cuniculi* ou du virus *neurotrophe* n'est pas réfractaire à une seconde infection du virus *neurotrophe* ou du *Spirochæta cuniculi* : il n'existe donc pas d'immunité croisée entre ces deux spirochètes.

Cependant, les expériences d'immunité croisée n'ont pas de valeur, quand on n'a pas la certitude qu'une réinfection d'un lapin guéri avec le même virus est impossible.

On sait qu'une infection guérie avec le virus *dermotrope* ne cause qu'une immunité partielle et incertaine, c'est-à-dire qu'il est possible de réinfecter un tel lapin.

J'ai fait des objections aux expériences d'immunité croisée entre le virus *Truffi* (d'un chancre syphilitique) et le *Spirochæta cuniculi* de Kolle, Ruppert et Möbus (2) parce qu'il y a beaucoup de différences entre les souches de *Treponema pallidum* obtenues d'un chancre syphilitique, comme je l'ai soutenu dans un travail antérieur (3).

(1) LEVADITI et MARIE. Ces *Annales*, 37, 1923, n° 2.

(2) KOLLE, RUPPERT, MÖBUS. *Archiv f. Dermat. u. Syphilis*, 135, 1921, p. 260.

(3) KLAARENBECK. *Loc. cit.*

Dans ce mémoire, j'ai voulu montrer qu'il ne serait pas impossible que la réinfection avec une autre souche de *Treponema pallidum* donnât de tout autres résultats.

Dans une note de date récente, Fournier et Schwartz (1) publient les résultats de leurs recherches sur la pluralité des Tréponèmes. Ils se sont servi de deux souches du *virus dermotrope* et ont pu montrer qu'il n'existe pas une immunité croisée entre ces deux spirochètes ; pour eux, la réinfection d'un lapin guéri avec le *virus dermotrope* d'une autre souche est possible.

Un lapin guéri de lésions provoquées par le *virus neurotrope* est-il réfractaire au *virus neurotrope* ?

Dans les publications de Levaditi et Marie, je n'ai pu trouver que deux expériences dans lesquelles ils décrivent les résultats de la réinfection avec le *virus neurotrope* (2). Ces deux lapins, après la guérison spontanée ou médicamenteuse d'une infection par le *virus neurotrope*, furent infectés pour la seconde fois avec le même virus. Un de ces animaux présentait les symptômes qu'on observe à la suite d'une inoculation positive. La réinfection avait eu lieu sur la peau scrotale où avait été contractée la lésion de la première infection. La récidive n'était pas très probable parce qu'on avait guéri cette lésion avec le salvarsan. Cependant Levaditi et Marie concluent : « Résultat inutilisable, à cause de la récidive tardive des lésions papulo-squameuses » et ils ajoutent : « A remarquer que cet animal a été guéri par injection de « 606 », par conséquent son immunité ne pourrait être que partielle. » Donc, quoiqu'ils rejettent la réinfection de ce lapin, ils ne l'excluent pas ; ils attribuent les lésions à la récidive.

Il ne me semble pas inutile d'étudier sérieusement la question de l'immunité d'un lapin après une infection par le *virus neurotrope*. La pratique m'a permis de constater que les résultats de l'infection et de la réinfection avec le *Spirochæta cuniculi* diffèrent profondément et, avec raison, on peut croire que c'est également le cas en expérimentant avec le *virus neurotrope*.

Actuellement on doit considérer que l'immunité n'est pas certaine et qu'on ne peut pas tenir comme certains les résultats

(1) FOURNIER et SCHWARTZ. Ces *Annales*, 37, p. 23, n° 2.

(2) LEVADITI et MARIE, Expériences de virus P. G. Les lapins 21 E et 23 E. *Loc. cit.*, 1919, p. 770-771.

des expériences d'immunité croisée chez des lapins guéris d'une infection avec le virus neurotrophe.

Est-il possible de réinfecter un lapin guéri avec le *Spirochæta cuniculi*?

Dans une note de 1921 (1), j'ai déjà montré qu'un lapin inoculé avec le *Spirochæta cuniculi* et guéri peut être réinfecté plus ou moins constamment.

Kolle, Ruppert et Möbus (2) ont aussi constaté cette réinfection après un traitement médicamenteux. La différence entre le *virus Truffi* et le *Spirochæta cuniculi*, sous ce rapport, n'est probablement que la suite des différences d'immunité vis-à-vis des deux spirochètes.

J'ai pu réinfecter plusieurs fois les lapins guéris. Les expériences suivantes montrent la possibilité de la réinfection :

Le 15 décembre 1921, le lapin 160 est inoculé par scarification dans le pli gauche de la région périnéale. Le 2 février 1922, spirochètes dans le pli gauche de la vulve. Le 6 février 1922, guérison spontanée. Le 5 mai 1922, réinfection avec le même matériel : scarification à droite de la vulve. Le 23 juin 1922, lésion typique à droite. Spirochètes.

Le 23 avril 1921, le lapin 158 est inoculé par scarification de la peau dorsale et de la paupière supérieure à droite. Lésions typiques de la peau dorsale. Spirochètes. Ces lésions sont extirpées pour en faire l'étude histologique. Le 3 août 1921, la peau de la paupière supérieure montre des lésions papulo-squameuses. Spirochètes le 27 août 1921. Le 1^{er} février 1922, aspect normal. Pas de spirochètes. Le 10 février 1922, réinfection : scarification du prépuce avec le même matériel. Le 6 mars 1922, lésion typique, spirochètes. Le 7 juin 1922, guérison spontanée de la deuxième infection. Le 5 juillet 1922, nouvelle réinfection : scarification des deux plis du prépuce. Le 23 juillet 1922, nouvelle réinfection : scarification des deux plis du prépuce. Le 2 juillet, belle lésion bilatérale. Spirochètes.

Le lapin 130 (né de parents infectés) est guéri le 12 février 1922 d'une infection spontanée de la région périnéale (tartrobismuthate de sodium et de potassium). Le 20 février 1922, scarification de la région périnéale et inoculation du matériel de la même souche. Le 1^{er} mai 1922, résultat négatif. Cet insuccès est probablement dû au fait que, dans l'injection intramusculaire de tartrobismuthate de sodium et de potassium, de petites quantités de bismuth quittent les muscles et passent dans l'organisme. Le 3 mai 1922, nouvelle scarification du pli périnéal à droite. Le 7 juin 1922, aspect et examen microscopique positifs, plaque humide ; spirochètes.

Le lapin 138 est inoculé le 13 décembre 1921, dans la région périnéale. Le 22 décembre 1921, lésion typique. Spirochètes. Le 20 février 1922, guérison

(1) KLARENBECK. *Loc. cit.*

(2) KOLLE, RUPPERT, MOBUS. *Loc. cit.*

par injection intramusculaire de trépol. Le 5 juillet 1922, nouvelle scarification avec le même matériel, des plis à droite et à gauche de la région péri-néale. Le 1^{er} août 1922, belle lésion (plaqué) dans le pli gauche. Spirochètes.

Le lapin 420 (né de parents infectés) fut infecté spontanément dans la région péri-néale. Des lésions typiques furent constatées de septembre à novembre 1921. Guérison spontanée, novembre 1921. Pas de spirochètes et pas de lésions jusqu'au 11 février 1922. A cette date, infection par scarification avec la même souche. 6 mars 1922, lésions papulo-squameuses. Spirochètes.

Le lapin 188 fut inoculé le 23 mai 1921, par scarification dans la peau dorsale et dans la paupière supérieure (à droite). Le 3 août 1921, une lésion sur la paupière. Spirochètes. Guérison spontanée le 12 décembre 1921. Réinfection par scarification du prépuce avec le même matériel le 14 décembre 1921. Le 1^{er} février 1922, lésion typique et spirochètes.

Les résultats de ces expériences prouvent que la réinfection des lapins guéris de la spirochétose provoquée par le Spirochæta cuniculi n'est pas impossible avec la souche qui a servi à la première infection. Un lapin guéri n'est donc pas un sujet favorable à l'expérience d'immunité croisée.

Levaditi et Marie n'ont pas encore réussi à démontrer qu'il y a des différences morphologiques et histologiques entre les deux variétés du *Treponema pallidum* : le *virus neurotropique* et le *Spirochæta cuniculi*. En supposant que ce *virus neurotropique* provienne, en effet, d'un paralytique général, on a, chez le lapin, une spirochétose provoquée par un microbe semblable à cette variété du *Treponema pallidum*.

(Travail de la clinique des petits animaux domestiques,
professeur H. Jakob, de l'Académie vétérinaire d'Utrecht.)

RECHERCHES SUR LE FERRO-MANGANÈSE NATUREL COMME ENGRAIS CATALYTIQUE

par C. PICADO et E. VICENTE.

A partir du moment où G. Bertrand eût montré le rôle des « infiniment petits chimiques » en agriculture, particulièrement des sels de manganèse, les recherches se sont multipliées dans tous les pays. Ces recherches ont porté particulièrement sur les sels solubles de manganèse : sulfate, azotate, etc... ; quant aux composés insolubles, les recherches sont moins nombreuses et, si nous nous reportons à la bibliographie relevée par Olaru (*Rôle du manganèse en agriculture; son influence sur quelques microbes du sol*, Baillière, 1920), nous trouvons les indications suivantes : J. Salomone (1907) emploie le sesquioxyde de manganèse et obtient une augmentation de 25 p. 100 dans les cultures d'avoine, oignon et ail. B. Shaghi (1911) emploie le oxyde à raison de 200 kilogr. à l'hectare et obtient une augmentation de récolte pour la tomate. R. Ricci et G. Barbera (1915), en employant le oxyde, obtiennent une augmentation du développement du blé, mais le rendement en grain est sensiblement égal à celui du témoin. I. Iannosi (1915), avec l'emploi du sesquioxyde dans les cultures du chanvre, obtient des résultats négatifs. F. Allemeyer (1912) trouve que les oxydes de manganèse furent presque sans action sur le seigle et le blé.

Comme on le voit, les expérimentateurs ne sont pas d'accord sur l'influence des composés insolubles du manganèse, mais il semble que souvent ils se soient contentés de répandre le composé de manganèse sans prendre soin de le mélanger intimement à la terre et c'est probablement à cause de cela qu'ils arrivent à voir « se former sur la terre une couche dure, très peu perméable » et qu'ils obtiennent des résultats négatifs.

Nous avons voulu expérimenter les minéraux naturels de manganèse de notre pays. Nous avons voulu les employer tels

qu'on les rencontre dans la nature, et ceci dans le but de savoir si l'on pouvait donner un emploi à l'énorme quantité de ces minéraux qui existent sur la côte Pacifique à Costa Rica et qui ont été autrefois l'objet d'exploitation pour les besoins métallurgiques (acières des canons, etc...) mais qui sont aujourd'hui abandonnés (1).

* * *

PLAN DE RECHERCHES. — Le champ d'expériences a été divisé en parcelles qui ont reçu des doses croissantes du minerai en progression géométrique variant de 2 à 512 kilogrammes par hectare. Dans chaque cas le minerai a été finement pulvérisé au mortier d'acier et au mortier de porcelaine; la poudre tamisée a été intimement mélangée à la terre dont on a fait des plates-bandes de 20 centimètres de hauteur sur le niveau du sol. Pour chaque espèce végétale cultivée on a employé 9 plates-bandes à doses croissantes de manganèse et une dixième est restée comme témoin.

Les espèces cultivées ont été: maïs, pommes de terre, haricots, avoine, radis et carottes. Dans d'autres séries nous avons utilisé l'oignon, le café, la canne à sucre, les dahlias et les œillets.

Résultats :

1° *Carottes.*

PLATE-BANDE numéro	MINERAI par hectare	POIDS EN GRAMMES pour 100 plantes
1.	2 kilogr.	5.263
2.	4 —	6.666
3.	8 —	4.230
4.	16 —	5.263

(1) L'analyse de ces minéraux pratiquée par M. le Dr G. Michaud, que nous remercions cordialement, a donné comme résultat :

	p. 100
Eau	1,51
Silice, silicates d'aluminium, calcium, magnésium, potassium et fer	15,86
Mn dosé, directement, au permanganate	38,47
Mn dosé par chlorométrie	37,08
Fer total	11,10
Phosphore	0,01
Soufre	traces

PLATE-BANDE numéro	MINERAIS par hectare	POIDS EN GRAMMES pour 100 plantes
5.	32 —	5.937
6.	64 —	4.477
7.	Témoin	5.753
8.	128 kilogr.	5.162
9.	256 —	6.166
10.	512 —	4.000

La plate-bande n° 2 donne 15 p. 100 sur le témoin; dans le n° 10 on voit déjà l'influence nocive de l'excès de manganèse.

2° Radis.

PLATE-BANDE numéro	MINERAIS par hectare	POIDS EN GRAMMES pour 100 plantes
1.	2 kilogr.	2.894
2.	4 —	2.703
3.	8 —	3.457
4.	16 —	2.125
5.	32 —	1.870
6.	64 —	2.033
7.	Témoin	3.538
8.	128 kilogr.	2.663
9.	256 —	3.567
10.	512 —	3.279

Pour les radis, de même que pour d'autres expériences sur la moutarde, nous n'avons pas obtenu de résultats favorables.

3° Avoine.

PLATE-BANDE numéro	MINERAIS par hectare	POIDS EN GRAMMES par sillon de 1 mètre
1.	2 kilogr.	1.485
2.	4 —	2.135
3.	8 —	2.165
4.	16 —	1.619
5.	32 —	1.672
6.	64 —	1.982
7.	Témoin	1.287
8.	128 kilogr.	1.779
9.	256 —	1.673
10.	512 —	1.347

Dans cette expérience on voit que *toutes* les plates-bandes ayant reçu du manganèse ont donné une récolte supérieure à celle du témoin. Le n° 3 a donné un rendement de 68 p. 100 sur le témoin.

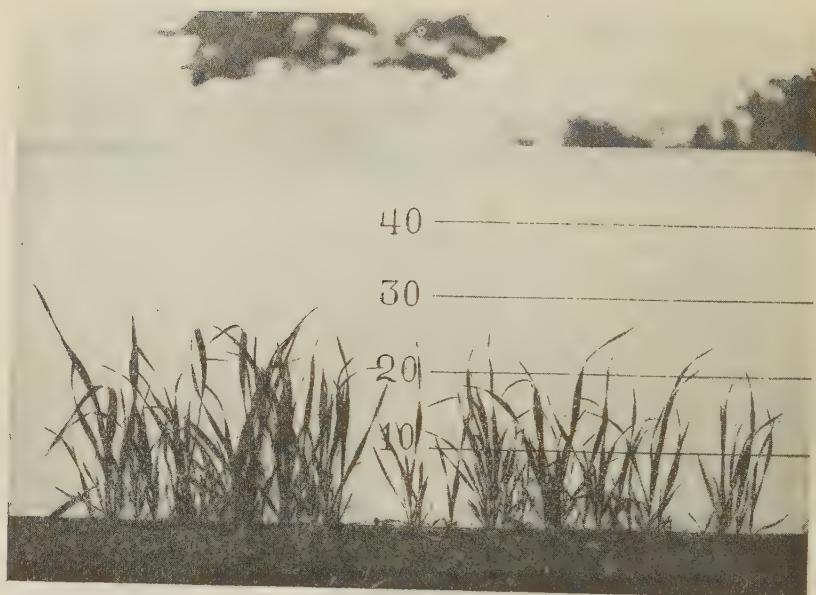


FIG. 1. — Culture d'avoine âgée de 5 semaines (témoin).

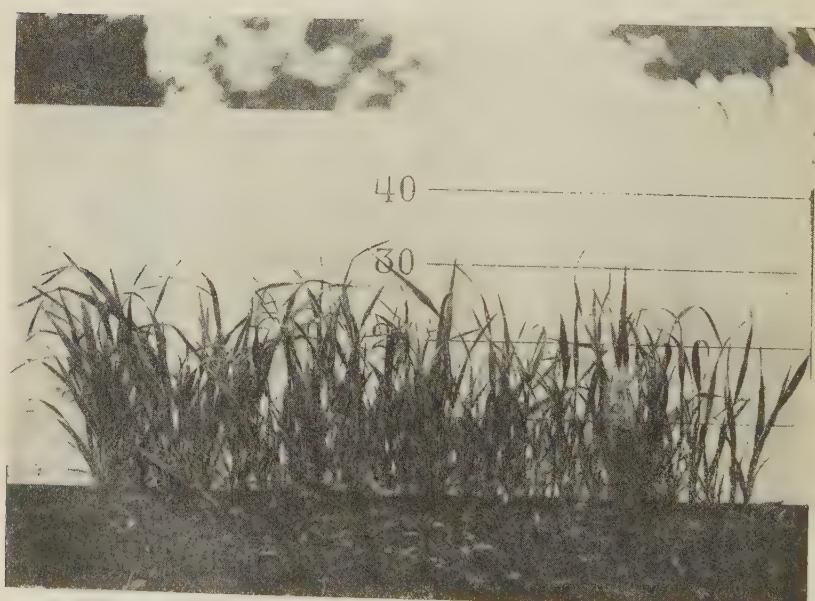


FIG. 2. — Culture d'avoine âgée de 5 semaines ayant reçu le ferro-manganèse à la dose de 8 kilogrammes à l'hectare.



FIG. 3. — Haricots âgés de 8 semaines ayant reçu 32 kilogrammes de ferro-manganèse à l'hectare (dose optima).

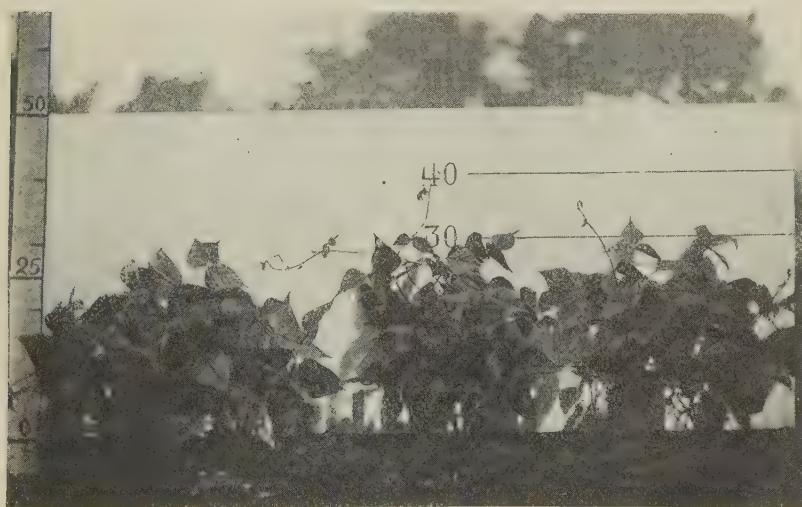


FIG. 4. — Haricots âgés de 8 semaines ayant reçu 128 kilogrammes de ferro-manganèse à l'hectare (à cette dose le minéral commence à être nocif).

4^o *Haricots.*

PLATE-BANDE numéro	MINERAI par hectare	POIDS EN KILOGRAMMES	
		des plantes entières par hectare	des graines par hectare
1	2 kilogr.	3.500	1.045
2	4 —	3.775	1.085
3	8 —	3.970	1.217
4	16 —	3.375	1.050
5	32 —	3.905	1.276
6	64 —	3.500	1.095
7	Témoin	3.750	1.120
8	128 kilogr.	2.910	1.027
9	256 —	2.850	980
10	512 —	3.250	800

La plate-bande n° 5 a donné un rendement en graines de 13,92 p. 100 sur le témoin.

5^o *Pommes de terre.*

PLATE-BANDE numéro	MINERAI par hectare	POIDS DES TUBERCULES par hectare	
		—	—
1	2 kilogr.	13.500	
2	4 —	15.500	
3	8 —	14.000	
4	16 —	18.500	
5	32 —	17.000	
6	64 —	15.250	
7	Témoin	13.500	
8	128 kilogr.	11.625	
9	256 —	11.000	
10	512 —	14.300	

La plate-bande n° 4 a donné un rendement de 37 p. 100 sur le témoin.

6^o *Maïs.*

PLATE-BANDE numéro	MINERAI par hectare	POIDS EN GRAMMES des épis par 100 plantes	
		—	—
1	2 kilogr.	16.363	
2	4 —	15.909	
3	8 —	13.333	
4	16 —	13.750	
5	32 —	15.000	
6	64 —	10.454	



FIG. 5. — Maïs âgé de 8 semaines (doses favorables de minéral : 2-16 kilogrammes à l'hectare).



FIG. 6. — Maïs âgé de 8 semaines (doses nocives de minéral : à partir de 64 kilogrammes à l'hectare).

PLATE-BANDE numéro	MINERAIS par hectare	POIDS EN GRAMMES des épis par 100 plantes
7.	Témoin	14.536
8.	128 kilogr.	12.777
9.	256 —	7.777
10.	512 —	10.500

La plate-bande n° 1 donne un rendement de 12,56 p. 100 comme poids des épis dépouillés des glumes. Le poids des plantes entières de la même parcelle donna une augmentation de 31 p. 100 sur le témoin. Le nombre des épis n'a pas été augmenté, mais ceux ayant reçu du manganèse étaient plus vigoureux et plus lourds.

7^e Rendement comparé.

PLANTE CULTIVÉE	QUANTITÉ OPTIMA de minerais par hectare	AUGMENTATION DE PRODUCTION sur le témoin
Carottes.	4 kilogr.	15 p. 100 (plante entière).
Avoine.	8 —	68 p. 100 (plante entière).
Haricots.	32 —	13,92 p. 100 (graines).
Pommes de terre	74 —	37 p. 100 (tubercules).
Mais.	2 —	31 p. 100 (plante entière).
Mais.	2 —	12,56 p. 100 (épis nus).

AUTRES EXPÉRIENCES. — Avec les œillets et les dahlias nous avons obtenu des plantes plus grandes, plus vertes et plus vigoureuses à la dose de 7 kilogrammes de minerais par hectare. Etant donné que le manganèse favorise la nitrification et que les engrains azotés ne favorisent, en général, que la production de feuillage, il était à craindre que les plantes à fleurs ne bénéficient pas de l'emploi du manganèse; mais l'expérience nous a montré que les plantes les plus développées, qui sont justement celles ayant reçu le manganèse, donnaient aussi plus de fleurs, au moins dans le cas des deux espèces citées.

Avec les oignons, nous avons obtenu une augmentation de 14 p. 100 sur le témoin en employant le minerais de manganèse à la dose de 5 kilogrammes par hectare; mais, dans ce cas, nous avons ajouté aussi du soufre à la dose de 10 kilogrammes par hectare.

Quant à la canne à sucre et au café, il est encore trop tôt pour pouvoir se prononcer.

Nous avons voulu voir aussi si ce minerai naturel de manganèse pouvait activer la fermentation alcoolique et nous

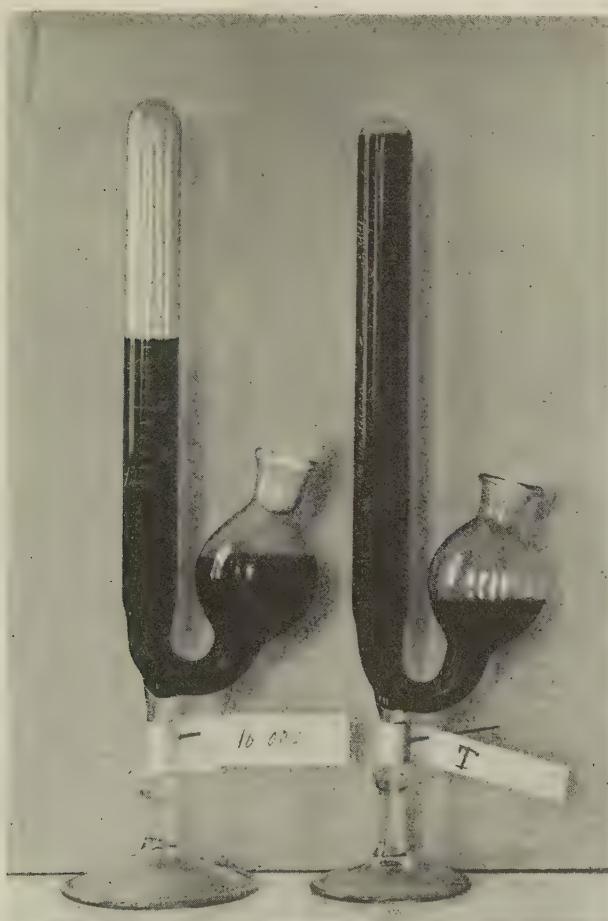


FIG. 7. — Fermentation de mélasse en présence de 1/16.000 de ferro-manganèse ; à droite, témoin.

avons constaté qu'à la dose de 1/16.000 à 1/32.000 la fermentation s'accélère notablement et le rendement en alcool est augmenté.

LES VACCINATIONS MICROBIENNES
PAR VOIE BUCCALE

par A. CALMETTE.

Les travaux récemment publiés sur la vaccination contre certaines maladies infectieuses par les voies digestives (vaccination *per os*) ont déterminé un assez grand nombre de médecins à recourir à cette méthode qui présente, sur celle des vaccinations par voie sous-cutanée, l'incontestable avantage d'être facilement acceptée par les personnes les plus pusillanimes. Ils ne se sont pas inquiétés de savoir dans quelle mesure ils pouvaient compter sur son efficacité. Ils ont fait confiance aux laboratoires qui leur paraissaient offrir des garanties et qui affirmaient avoir ainsi réussi à immuniser les animaux dont ils se servent habituellement pour leurs expériences.

Or, il faut reconnaître que, jusqu'à présent, nous ne sommes pas suffisamment fixés sur la valeur pratique de ce procédé d'immunisation, ni sur les conditions dans lesquelles il pourrait être utilisé.

C'est pourquoi j'ai cru profitable au progrès de nos connaissances sur cet important sujet de résumer et de discuter les faits expérimentaux et les observations cliniques qui sont susceptibles de nous éclairer.

* * *

L'idée première de réaliser la vaccination contre une maladie microbienne par les voies digestives appartient incontestablement à Pasteur. Dans une note présentée le 12 juillet 1880 à l'Académie des Sciences et signée de Pasteur, Chamberland et Roux, elle est exprimée dans les termes suivants :

« Les poules qui ont été nourries avec des aliments souillés du microbe du choléra des poules, lorsqu'elles ne meurent pas, peuvent être vaccinées. Il y a lieu, dès lors, de se demander si l'on ne pourrait arriver à vacciner des moutons contre l'infection charbonneuse en les soumettant préalablement et graduellement à des repas souillés des spores du parasite. »

Malheureusement les essais tentés dans la suite ne furent pas satisfaisants. L'inconstance des résultats obtenus, mise en parallèle avec la constante efficacité des virus-vaccins injectés sous la peau, décida les expérimentateurs à abandonner l'ingestion.

Celle-ci ne fut reprise que beaucoup plus tard, en 1891, par P. Ehrlich (1) qui réussit à vacciner des souris *per os* contre des toxines végétales, l'*abrine* du Jéquirity (*Abrus precatorius*) et la *ricine* des graines du ricin (*Ricinus communis*). Au cours de ses recherches, P. Ehrlich put constater qu'il se formait de l'antitoxine dans le sang des souris ainsi vaccinées, que l'*antiabrine* ou l'*antiricine* passait dans le lait et que les jeunes souris, allaitées par des mères vaccinées *per os*, se trouvaient passivement immunisées pour quelques semaines.

Mais il s'agissait là de toxalbumines, non de microbes, et l'on vit bientôt que, s'il est exact que certaines toxines microbiennes, en particulier la toxine botulinique (2), sont absorbées et ne sont pas modifiées par l'intestin, d'autres, — telles les toxines diphtérique et téstanique, comme aussi le venin des serpents, — sont détruites dans les parties supérieures du tube digestif et ne sont absorbables qu'en partie par le gros intestin lorsqu'on les introduit sous forme de lavement dans le rectum.

En employant, au lieu de toxines, les microbes eux-mêmes, vivants ou tués par le chauffage, on n'obtint tout d'abord aucun résultat encourageant.

Il semblait qu'on dût renoncer à réaliser par voie buccale une vaccination assez solide pour permettre aux animaux de résister aux inoculations d'épreuve faites par voie sous-cutanée ou intraveineuse.

Pourtant Klemperer (3) (1892), Metchnikoff (4) (1893-1894), Sawtchenko et Zabolotny (5), Wakulenko (1903), avaient fait quelques tentatives, moins malheureuses que celles des précédents expérimentateurs, en ingérant eux-mêmes ou en faisant ingérer des cultures de vibrions cholériques ou de bacilles typhiques vivants ou tués par chauffage. Après plusieurs ingestions on observait un accroissement du pouvoir agglutinant du sérum, allant quelquefois jusqu'à des taux très élevés. On pensait alors qu'il existait un parallélisme entre le pouvoir agglutinant et l'immunité. Or, on sait

(1) *Deut. med. Woch.*, 1891, nos 32 et 44, et *Zeits. f. Hygiene*, 1892.

(2) A. TCHITCHKINE. Ces *Annales*, 1904, p. 576; 1905, p. 335, et H. LIPPmann. *Med. Klin.*, 1910, p. 1477.

(3) *Berl. klin. Woch.*, 1892, p. 50.

(4) Ces *Annales*, 1893, p. 576 et suiv.

(5) *Wratch*, 1893, p. 572.

aujourd'hui qu'il n'en est rien et que des sujets rendus réfractaires à la fièvre typhoïde, par exemple, par une atteinte de cette maladie, perdent à la longue le pouvoir agglutinant de leur sérum, tandis qu'ils restent parfaitement immuns.

D'autres faits, plus précis, furent bientôt publiés par Ejero Yoshida (1) (1905), J. Cantacuzène (2), F. Loeffler (3) (1906), A. Calmette, C. Guérin et M. Breton (4) (1907), K. Wolf (5), K. Shiga (6), F. Chvostek (7), G. Fornario (8), M. Breton et G. Petit (9) (1908), Ch. Dopter (10) (1909), G. Brückner (11), J. Courmont et A. Rochaix (12), F. S. H. Baldrey (13) (1911). Ils se rapportaient à de nombreux essais de vaccination par voie buccale contre les microbes les plus divers : bacilles typhique et paratyphiques, bacille de la morve, vibrion cholérique, bacille tuberculeux, bacille de la dysenterie Shiga, bacille de la peste, bacille de la diphtérie, virus filtrant de la peste bovine.

Et il s'en dégageait avec évidence la possibilité d'obtenir, avec ou sans formation d'anticorps (agglutinines, lysines) dans les humeurs, chez les animaux qui ingèrent de grandes quantités de microbes tués par chauffage ou avirulents pour le tube digestif, un état d'immunité tel que ces animaux ne succombent plus lorsqu'on leur inocule ultérieurement, dans les veines ou sous la peau, des doses de ces virus suffisantes pour tuer sûrement les témoins.

Dès lors les recherches se multiplient en vue d'applications pratiques à l'homme, et il est naturel qu'elles aient principalement pour objet la préservation contre les maladies à symptômes intestinaux prédominants (fièvres typhoïde et paratyphoïdes, dysenterie bacillaire, choléra) et aussi la préservation contre l'infection tuberculeuse, que les travaux déjà anciens de Chauveau, ceux alors récents de A. Calmette et C. Guérin, de H. Valtée, tendent de plus en plus à classer parmi les maladies qui, comme la morve chez le cheval, se contractent *normalement* par les voies digestives.

Avant d'en exposer les résultats, il n'est pas inutile de rappeler

- (1) *Archiv für Hyg.*, 69, p. 21.
- (2) *Soc. de Biol.*, 15 décembre 1906, p. 618.
- (3) *Gedenkschr. f. R. v. Lentholt*, 1906, p. 247.
- (4) Ces *Annales*, juin et juillet 1907, p. 403 et 527.
- (5) *Münch. med. Woch.*, 1908, p. 270.
- (6) *Saikingu-Zassi*, 1908, p. 139.
- (7) *Wien. klin. Woch.*, 1908, n° 14.
- (8) *Soc. de Biol.*, 1908, p. 24, et Ces *Annales*, 1908, p. 353.
- (9) *Soc. de Biol.*, 1908, p. 813.
- (10) Ces *Annales*, 1909, p. 677.
- (11) *Zeits. f. Immunitätsf.*, 1911, 8, p. 439.
- (12) *Acad. des Sciences*, 20 mars, 10 juillet 1911; *Presse Méd.*, 3 juin 1911.
- (13) *Journ. of tropical veter. Sc.*, 1911, 6, n° 2.

comment il faut comprendre aujourd'hui le rôle de l'intestin dans l'*absorption* et dans l'*élimination* des microbes.

* * *

Jusqu'à ces dernières années on croyait que les microbes ne pouvaient traverser la muqueuse intestinale qu'à la faveur d'une érosion ou d'une ulcération de celle-ci.

On sait maintenant, grâce aux procédés d'hémoculture, que chez les animaux à sang chaud, et principalement chez les mammifères, chaque repas est suivi d'un véritable ensemencement du sang et que, si l'on mélange à la nourriture, en quantité convenable et en émulsion finement divisée, certains microbes facilement reconnaissables (bacille pyocyanique, bacillus prodigiosus, bacillus fluorescens, etc.), on retrouve toujours ceux-ci, quelques heures après, dans la lymphe du canal thoracique, dans le sang, dans les ganglions mésentériques et aussi dans les poumons.

Le plus grand nombre de ces microbes non pathogènes est rapidement détruit par l'action combinée des cellules phagocytaires, de l'alexine et des sensibilisatrices normalement contenues dans les humeurs des animaux sains. Les microbes pathogènes, englobés dans les phagocytes ou libres, restent dans la circulation ou sont retenus par divers organes et y déterminent des troubles plus ou moins graves.

Le mécanisme de cette absorption n'est pas aussi simple qu'on l'avait cru d'abord. Pour le comprendre il faut avoir bien présente à l'esprit l'histologie du tube digestif et se rappeler que la surface de celui-ci est une véritable mosaïque de nodules lymphoïdes, de cellules épithéliales cylindriques à plateau et de cellules muqueuses en forme de calice. Les nodules lymphoïdes, agglomérés (plaques de Peyer) ou isolés, peuvent être comparés à de petites éponges bourrées de leucocytes. C'est à ceux-ci qu'est dévolue la fonction de capturer, d'englober et de véhiculer les microbes.

C'est donc par les nodules lymphoïdes que se fait *normalement* l'absorption des microbes apportés par le chyme à leur contact, et c'est aussi en partie par eux (mais surtout par le foie et la bile), que s'effectue l'excration des germes comme celle des résidus pigmentaires provenant de la circulation sanguine, et dont l'organisme se débarrasse, comme de corps étrangers inutiles, vers l'extérieur.

L'épithélium qui recouvre les innombrables villosités intestinales (il en existe plus de mille par centimètre carré) n'est lui-même jamais assez intact pour empêcher les leucocytes, très abondants

dans l'épaisseur de la muqueuse, de s'infiltrer entre les cellules qui le constituent. Celles-ci, d'ailleurs, se desquament constamment, surtout pendant tout le cours de la digestion, et les myriades de petites plaies ainsi formées constituent autant de voies de pénétration pour les microbes de l'intestin vers le cul-de-sac lymphatique qui occupe le sommet et l'axe de chaque villosité.

On pourrait croire qu'en raison de ces dispositions anatomiques et de l'énorme surface absorbante du seul intestin grêle, — (chez l'homme adulte, cette surface est de plus de 10 mètres carrés, non compris celle des villosités), — il doit être extrêmement facile de provoquer, par simple ingestion avec les aliments, l'imprégnation de l'organisme par tel ou tel microbe et de réaliser ainsi, au gré de l'expérimentateur, la vaccination contre telle ou telle maladie infectieuse.

Il n'en est cependant rien, et c'est fort heureux, car les germes malfaisants, si répandus dans les milieux qui nous entourent, emprunteraient avec la même facilité les mêmes voies, au grand dam de notre existence.

Il semble que la nature se soit plu à accumuler les obstacles à cette absorption. C'est d'abord le mucus épais, produit des cellules en forme de calice, qui s'étale et recouvre toute la surface de l'intestin sain, englue les leucocytes, supprime leur mobilité et leurs fonctions phagocytaires.

Ensuite ce sont les sécrétions gastriques, biliaires, et celles des glandes de Lieberkühn, qui dissolvent et digèrent un grand nombre de corps microbiens vivants ou morts (la bile, par exemple, dissout les pneumocoques).

Enfin, et surtout, l'alexine et les sensibilisatrices qui apparaissent déjà dans le sang et les humeurs des animaux peu après leur naissance (à mesure que se réalise leur vaccination spontanée contre les innombrables germes saprophytes introduits dans leur organisme par le lait, l'eau ou les aliments dont est constituée leur nourriture, par l'air qu'ils respirent, par le sol qui les porte), auxquelles il convient d'ajouter certaines actions lytiques que nous commençons seulement à connaître (phénomènes de Twort et d'Hérelle), interviennent pour « lyser » la plupart des germes dès leur pénétration dans les vaisseaux chylifères.

Et c'est, sans doute, l'absorption continue ou intermittente des produits de cette lyse ou de ces actions digestives qui détermine ce phénomène si curieux, qu'on observe dans toute la série animale, d'immunité de l'intestin contre les espèces microbiennes qui ont réalisé leur adaptation à la vie dans le tube digestif.

Cette immunité, toute *locale*, est d'essence différente de l'*immunité générale*, puisqu'il arrive fréquemment que des germes saprophytes, hôtes normaux de l'intestin, franchissent accidentellement l'enceinte de leur domaine et, trouvant devant eux l'organisme sans défense, privé d'anticorps spécifiques, acquièrent aussitôt des propriétés pathogènes (bacille *coli*, vibron septique, bacille du tétanos, etc.).

Inversement, il est singulièrement remarquable de constater que plusieurs espèces de microbes, plus ou moins pathogènes, ont une affinité toute particulière pour certaines portions de la muqueuse de l'intestin grêle ou du gros intestin. Lorsqu'ils viennent à pénétrer dans l'organisme par n'importe quelle voie (muqueuse buccale ou pharyngée, muqueuse oculaire, circulation lymphatique ou sanguine), ils ne produisent d'abord aucun désordre fonctionnel et, échappant aux actions défensives phagocytaires et humorales, ils vont en toute hâte — quelques minutes ou quelques heures leur suffisent — se localiser dans les nodules lymphoïdes du duodénum, de l'iléon, de l'appendice ou du cæcum, plus rarement dans les glandes de la muqueuse gastrique. Une fois établis sur leur terrain d'élection, ils se multiplient, fabriquent des toxines spécifiques généralement très actives et déterminent des lésions organiques ordinairement graves.

C'est ainsi que procèdent les virus de la fièvre typhoïde, des paratyphoïdes, de la dysenterie bacillaire, du choléra, et on appelle *gastro* ou *entérotropisme* cette propriété spéciale que possèdent le bacille d'Eberth, les paratyphiques, le bacille de Shiga ou le vibron cholérique, de se diriger immédiatement vers un lieu d'élection intestinal, alors même qu'ils sont injectés sous la peau ou dans la circulation sanguine.

Dès 1885, Emmerich (1), puis Büchner (2), avaient signalé cette migration du vibron cholérique injecté sous la peau vers l'intestin. Douze ans plus tard (1897), Issaeff et Kolle (3) constatèrent le même fait. Mais aucun de ces expérimentateurs n'avait eu l'idée de lier le canal cholédoque pour exclure l'intervention éliminatrice du foie par la bile. Chiarolanza (4) en 1908; Ribadeau-Dumas et Harvier (5), puis Hess (6) en 1910, M. Breton, L. Bruyant et A. Mézie (7) en 1911,

(1) *Archiv f. Hyg.*, 1885, 3, p. 291.

(2) *Ibid.*, 1885, p. 361 et 400.

(3) *Zeits. f. Hyg.*, 1897, 48, p. 17.

(4) *Ibid.*, décembre 1908, 62, p. 41.

(5) *Soc. de Biol.*, 25 juillet 1910, p. 181.

(6) *Journ. of med. research*, 1910, 21, p. 129.

(7) *Soc. de Biol.*, 2 décembre 1911 et 19 juillet 1912.

prirent cette précaution et purent ainsi démontrer, soit avec le bacille typhique et les paratyphiques A et B, soit avec le *B. prodigiosus*, que ces microbes, injectés dans la circulation sanguine, se retrouvent dans le duodénum, l'iléon et l'appendice.

Mais l'étude méthodique du phénomène de l'*entérotropisme* est de date toute récente. Elle a été faite d'abord par G. Sanarelli pour le vibrion cholérique chez les lapins à la mamelle (1), puis par A. Besredka (2) pour les bacilles dysentérique, typhique, paratyphique B en 1918 et 1919, et, peu de temps après, pour le vibrion cholérique par J. Cantacuzène et A. Marie (3), en 1919.

C'est à tous ces travaux que nous devons de mieux comprendre le mécanisme des infections intestinales. Il était donc indispensable de les rappeler avant d'aborder la seconde partie de cette étude qui doit nous conduire à porter un jugement d'attente sur la valeur pratique des vaccinations microbiennes par voie buccale.

I. — Essais de vaccination par voie buccale contre les fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

Les premières tentatives ont été faites en 1906 par Loeffler (4) qui, en faisant ingérer onze fois en deux semaines à des souris blanches et à des campagnols (*Mus arvicola*) des cultures de son *Bacillus typhi murium* tuées par chauffage à 70°, réussit à immuniser quelques-uns de ces petits rongeurs contre l'ingestion de cultures vivantes et virulentes; mais, outre que l'immunité ainsi conférée était de courte durée (dix-huit jours en moyenne), il ne parvenait pas à les protéger contre l'infection par voie sous cutanée ou intrapéritonéale. Et comme il ne constatait pas la formation d'agglutinines dans le sérum des campagnols ainsi immunisés par voie buccale, il en concluait qu'il s'agissait là, non d'une immunité générale, mais d'une immunité « de tissu », localisée à la muqueuse du tube digestif.

Deux ans plus tard, K. Wolf (5), puis son élève Ejiero Yoshida (6), refirent les mêmes expériences avec des souris auxquelles ils faisaient absorber de grandes quantités (15 cent. cubes de culture

(1) *Acad. des Sciences*, 163, 6 novembre 1916; *Ann. d'Igiene*, 29, 31 mars 1919, p. 429, et Ces *Annales*, 1920, p. 973; 1921, p. 745; 1922, p. 386.

(2) *Académie des Sciences*, 167, 5 août 1918, p. 212 et 242; 168, p. 1338, 23 juin 1919, et Ces *Annales*, 1919, p. 301 et 557.

(3) *Soc. de Biol.*, 19 et 26 juillet 1919, p. 842 et 981.

(4) *Lentholt-Festschrift*, 1.

(5) *Münch. med. Woch.*, 1908, n° 6.

(6) *Archiv für Hyg.*, 1909, 69, p. 21.

en bouillon) de cultures vivantes d'un mélange de plusieurs souches de paratyphique B non virulentes. Les souris résistaient ensuite à l'ingestion de cultures virulentes. On trouvait des lysines spécifiques dans leur sérum, mais pas d'agglutinines. Les lysines étaient mises en évidence par la méthode de Pfeiffer.

A la même époque, Kutscher et Meinicke (1) réussissaient à vacciner des cobayes simultanément contre le paratyphique B et contre le *B. typhi murium*, avec l'un ou l'autre de ces microbes, en leur faisant absorber un seul repas copieux de culture en bouillon de vingt-quatre heures mélangée à de la pulpe de carottes.

Quatre semaines plus tard, ils constataient que la plupart de leurs animaux étaient assez bien vaccinés pour supporter l'injection intrapéritonéale de doses 1.000 et 10.000 fois mortelles de para B ou de *typhi murium*.

Les expériences de ces auteurs ont porté sur 64 souches différentes de para B. Trois de ces souches n'étaient aucunement pathogènes pour le cobaye en injection intrapéritonéale. Une tuait à 1/10 d'anse de platine, une à 1/60, quatre à 1/10.000. Un para B, isolé par Kurth à Brême, tuait le cobaye à 1/200 d'anse (oëse). Un autre, isolé par Hühnermann à Sarrebrück, tuait le lapin par voie péritonéale à 1/10 d'anse, tandis que B. Fischer, avec son para B de Kiel, tuait le cobaye à 1/1.000 d'anse.

Il faut conclure de tout cela que la virulence des paratyphiques B pour les animaux de laboratoire est extrêmement variable, alors même que ces microbes proviennent directement d'un organisme humain malade.

Un autre travail de G. Brückner et E. Lévy (2), publié en 1911, confirmant d'ailleurs celui de K. Wolf, indique que les souris auxquelles on fait absorber pendant neuf jours de suite une culture avirulente de paratyphique B sont ensuite capables, non seulement de supporter l'ingestion d'une culture virulente, mais même de résister à l'inoculation sous-cutanée d'une ou deux doses mortelles. La vaccination intensive *per os* réalisera donc une véritable immunité générale, contrairement à l'opinion de Löffler.

La même année 1911, Metchnikoff et Besredka (3), étant parvenus à transmettre la fièvre typhoïde au chimpanzé, essayèrent de vacciner un de ces anthropoïdes en lui faisant ingérer en deux fois 15 cent. cubes de culture typhique chauffée à 60°. Onze jours après, le chimpanzé absorba, en même temps qu'un témoin, le produit de

(1) *Zeits. für Hyg.*, 52, p. 301.

(2) *Zeits. f. Immunitätsf.*, 8, p. 439.

(3) *Ces Annales*, 1911, p. 193.

racelage d'une demi boîte de Roux de culture vivante. Le chimpanzé vacciné n'éprouva qu'un léger malaise fébrile. Son sang ne contenait pas de bacille d'Eberth et devint agglutinant aux 2/1.000. Le témoin fournit une hémoculture positive et eut une forte fièvre pendant plusieurs jours.

Mais une seconde expérience, faite sensiblement dans les mêmes conditions, fournit un résultat négatif. Les auteurs, pour cette fois, n'allèrent pas plus loin.

Encore cette même année 1911, Jules Courmont et A. Rochaix (1) rapportèrent, dans deux communications à l'Académie des Sciences, des essais analogues tentés par eux sur des lapins et sur des chèvres auxquels ils administraient, soit par voie buccale, soit en injection dans le rectum, des mélanges de cultures typhiques de plusieurs origines, tuées par chauffage. Ils obtenaient une immunité persistant seulement de trois à six mois, plus nette et plus durable après injection rectale qu'après ingestion, celle-ci ayant, en outre, l'inconvénient de donner lieu à des phénomènes réactionnels assez intenses (fièvre, diarrhée), et le sérum de leurs animaux devenait agglutinant et lytique. Suivant eux, la méthode devait être applicable à l'homme.

Trois ans plus tard, cette application fut proposée et réalisée pratiquement par Auguste Lumière et Jean Chevrotier (2) qui avaient précédemment étudié et préparé des vaccins antityphiques polyvalents (mélanges de bacilles typhiques, paratyphiques et bacille coli en parties égales). Ces savants eurent l'ingénieuse idée d'enfermer, dans de petites capsules de kératine, de grandes quantités de corps microbiens d'abord débarrassés, par des lavages et centrifugations successifs, des exotoxines produites dans les milieux de culture, tués ensuite par une heure de chauffage à 50°, puis desséchés et réduits en poudre.

L'enveloppe de kératine n'étant pas attaquée par le suc acide de l'estomac, les corps microbiens ne se trouvent mis en liberté que dans l'intestin grêle, de sorte que leurs chances d'absorption sont ainsi beaucoup accrues, d'autant que chaque capsule ou sphère contient une assez grande quantité de microbes (300 millions de bacilles d'Eberth, 120 millions de paratyphiques, et 180 millions de bacillus coli).

Ingérée à la dose de 3 milliards de corps microbiens par kilogramme d'animal, en trois fractions à huit jours d'intervalle, cette

(1) *Académie des Sciences*, 1911, 20 mars, 9 avril.

(2) *Académie des Sciences*, 158, 19 janvier 1914, p. 197, et *Soc. de Thérapeutique de Paris*, 13 janvier 1915.

préparation, d'après les auteurs, confère au lapin et au cobaye l'immunité contre l'infection expérimentale par une dose sûrement mortelle en vingt-quatre heures de bacilles d'Eberth ou de paratyphiques. Un an après leur vaccination, les animaux ainsi immunisés ont pu recevoir une dose mortelle de culture virulente sans présenter aucun trouble, alors que tous les témoins, inoculés dans les mêmes conditions, mouraient en vingt-quatre heures.

Ces *entéro-vaccins* ont été employés par beaucoup de médecins au début de la guerre, dans les troupes, dans des camps de prisonniers (Dubarry) [1] et depuis, dans des localités où sévissaient des épidémies de fièvre typhoïde. D'après les rapports qui ont été publiés, ou dont nous avons eu communication, les résultats auraient été partout satisfaisants. Dans nombre de cas, particulièrement dans le service du professeur Teissier, à l'Hôtel-Dieu de Lyon, on a constaté l'apparition de propriétés agglutinantes dans le sang des sujets vaccinés. Mais on sait aujourd'hui qu'il ne faut pas attacher une grande importance à ce fait, puisqu'il n'existe pas de relation constante entre ces propriétés agglutinantes du sérum et l'immunité (F. Trémolières, P. Loew et Maillart) [2].

A partir de 1918, A. Besredka a entrepris, à l'Institut Pasteur, toute une importante série de travaux sur l'infection et la vaccination par voie buccale des souris, puis des lapins. Dans ses premières recherches, en collaboration avec M^{me} S. Bassèches (3), il utilisa un paratyphique B isolé de l'épidémie très meurrière de Wrexham et qui se révéla tout à fait avirulent pour les souris par ingestion, mais qui tuait ces petits rongeurs par voie sous-cutanée à la dose de 1/100^e de culture sur gélose (en tubes). Il put constater que, pendant les dix premiers jours qui suivent l'ingestion de ce virus vivant, chauffé, ou sensibilisé par un antisérum, les souris succombent à l'épreuve sous-cutanée comme les témoins. Mais à partir du dixième jour, et pendant un mois et demi environ après un unique repas de para B, pourvu que ce repas ait été copieux, les souris sont immunisées contre une ou plusieurs doses mortelles de virus paratyphique injecté sous la peau. Les souris vaccinées avec la culture vivante présentaient une immunité plus solide et plus durable que celles qui avaient reçu le virus sensibilisé ou les bacilles tués. Ces dernières résistaient tout au plus à une seule dose mortelle.

D'autres expériences, effectuées sur le lapin, ont conduit Besredka

(1) *Académie des Sciences*, 25 mai 1915, 160, p. 690.

(2) *Bull. de l'Académie de Médecine*, 26 octobre 1915, p. 477.

(3) Ces *Annales*, 1918, p. 199; *Acad. des Sciences*, 27 juillet 1918, 167, p. 212; *Acad. des Sciences*, 30 juin 1919, 168, p. 1338; Ces *Annales*, 1919, p. 557 et 882.

à user d'un artifice pour sensibiliser l'intestin de cet animal et faciliter ainsi l'absorption des bacilles tués par chauffage, en évitant, comme A. Lumière et Chevrotier en avaient eu, les premiers, l'idée, leur destruction dans l'estomac. Cet artifice consiste à utiliser la bile de bœuf stérilisée, qu'on fait ingérer au lapin à la dose de 5 cent. cubes, seule ou en mélange avec un peu de poudre de réglisse (ce qui la rend moins amère). Une ou deux ingestions de bile, quelques heures avant l'ingestion d'une quantité convenable de culture de bacilles tués par chauffage, suffisent à assurer l'absorption des microbes par la muqueuse intestinale et à réaliser l'immunité, même contre l'inoculation du virus dans les veines.

Les lapins préalablement sensibilisés par la bile succombent si on leur fait ingérer, vingt-quatre heures après, des bacilles typhiques ou paratyphiques vivants, alors que les lapins non sensibilisés restent indemnes.

Ayant observé ce fait, assurément intéressant, qui démontre la réceptivité spécifique de l'intestin, et qu'il a trouvé également vrai pour la dysenterie expérimentale, Besredka a pensé qu'on pourrait en tirer parti pour la vaccination de l'homme contre les infections typhiques et paratyphiques.

Nous ne connaissons actuellement que les résultats de deux expériences qui ont été faites, l'une dans le département du Pas-de-Calais par L. Vaillant (1), en 1921, l'autre au Prytanée militaire de La Flèche, en 1923. Il est difficile d'en tirer des conclusions positives, car la première semble défectueuse par ce fait que, les pilules de bile et les comprimés de microbes-vaccins dont il a été fait usage n'ayant pas été absorbés en présence d'un médecin ou d'une personne responsable, il est impossible de savoir si les ingestions ont été correctement et régulièrement effectuées. La seconde, parce qu'elle fut commencée au déclin d'une petite épidémie d'origine hydrique, à une époque où les sujets qui n'avaient pas contracté la maladie n'étaient sans doute plus exposés à être infectés, ne buvant plus d'eau suspecte.

L'expérience du Pas-de-Calais avait été faite dans six villages comptant ensemble environ 2.000 habitants, où s'étaient produits 29 cas de fièvre typhoïde avant toute intervention et 30 cas après qu'on eut vacciné 1.236 personnes avec le vaccin + bile, et 173 personnes avec le vaccin TAB chauffé; 650 personnes environ s'étant soustraites ou refusées à la vaccination.

Parmi les sujets qui ont absorbé le vaccin + bile, 5 furent atteints

(1) *Ces Annales*, 1922, p. 149.

le jour de la vaccination ou le lendemain, et 2 le dixième jour après, soit 0,17 p. 100.

Parmi les vaccinés par le TAB, il y eut 4 atteintes entre le cinquième et le douzième jour après la dernière injection, soit 2,3 p. 100; et, parmi les non vaccinés, on compte encore 21 cas de fièvre typhoïde, soit 7,7 p. 100.

L'expérience du Prytanée militaire de la Flèche (1) porta sur un total de 523 élèves de cet établissement où 43 cas de fièvre typhoïde s'étaient produits en dix jours, du 8 au 18 avril 1923. 253 élèves furent vaccinés les 19 et 20 avril, par injections sous-cutanées de TAB, et 268 par ingestion de bacilles tués + bile.

Parmi les premiers, 10 tombèrent malades dans les vingt jours qui suivirent la vaccination et 5 cas seulement se produisirent parmi les seconds dans les onze premiers jours. Tous ces cas furent bénins et il ne survint aucun décès parmi les vaccinés. L'épidémie cessa.

Il semble qu'on puisse conclure de cet essai que la méthode de vaccination par ingestion de bacilles tués + bile est sûrement inoffensive, car les sujets présentant quelque tare physiologique n'en ont éprouvé aucun dommage, et que son efficacité n'a pas été moindre que celle des injections hypodermiques.

Mais l'utilité pour l'homme, même pour l'enfant, de l'ingestion d'une pilule de bile de bœuf précédant celle du vaccin microbien paraît douteuse. Elle ne suffit certainement pas à produire, dans un intestin qui reçoit chaque jour plusieurs centaines de grammes de sécrétion biliaire de la glande hépatique, cette « desquamation » que Besredka trouve indispensable à l'absorption des corps bacillaires par la muqueuse intestinale du lapin.

Et, même chez cet animal, pour que soit réalisée la sensibilisation vis-à-vis des bacilles typhique et paratyphiques, il faut faire ingérer des quantités de bile relativement énormes, 2 à 3 cent. cubes au moins par kilogramme, ce qui correspondrait, chez un sujet de 60 kilogrammes, à 120 ou 180 cent. cubes, dose qui ne pourrait pas être tolérée.

D'ailleurs, dans un travail récent fait à l'Institut Rockefeller, Leslie T. Webster (2) a montré par de nombreuses expériences sur les souris que, pour que l'ingestion de bile de bœuf stérile exerce une action favorisante sur l'infection par le bacille paratyphique, il est nécessaire d'en faire absorber à ces petits rongeurs au moins 0 c. c. 25, dose très voisine de la dose toxique.

(1) *Soc. de Biol.*, 7 juillet 1923, p. 366.

(2) *Journ. of experim. medicine*, 1^{er} janvier 1923, 37, p. 33.

D'autre part, F. Neri (1) avait précédemment indiqué qu'on peut fort bien remplacer la bile par l'huile d'olive.

Ce qui paraît surtout important, pour que soit réalisée la pénétration d'un nombre suffisant d'éléments vaccinants dans l'organisme, c'est de faire absorber, plusieurs jours de suite, un nombre considérable de microbes tués par chauffage, et d'introduire ces microbes dans le tube digestif sous une forme telle que leur dispersion dans un véhicule alimentaire (lait ou eau sucrée par exemple) soit le mieux et le plus vite possible assurée.

Il est désirable que, dans les milieux où sévissent de graves épidémies typhiques, des expériences soigneusement contrôlées soient poursuivies pendant quelques années sur un grand nombre de sujets dont les uns seraient vaccinés par voie buccale, les autres par la méthode d'inoculation sous-cutanée.

Jusqu'à ce que soit faite la preuve que les deux procédés ont une efficacité équivalente, il est, croyons-nous, prudent de s'en tenir, dans la prophylaxie familiale et dans la pratique courante, sauf lorsqu'il existe une contre-indication dont le médecin est juge, aux injections sous la peau, qui assurent l'absorption d'un nombre déterminé de microbes-vaccins.

II. — Essais de vaccination par voie buccale contre la dysenterie bacillaire.

On s'est naturellement efforcé d'appliquer aux virus dysentériques, aussitôt que leur spécification fut suffisamment établie, les mêmes méthodes de vaccination préventive qui se montraient efficaces contre les infections typhiques. Malheureusement, on ne tarda pas à s'apercevoir qu'il était impossible d'injecter sous la peau des bacilles tués par chauffage à 60° sans provoquer d'intolérables douleurs et, trop souvent, des altérations nécrotiques du tissu cellulaire. Les mélanges de sérum antidyssentérique avec les bacilles produisaient les mêmes effets. Il serait donc encore plus urgent que pour la fièvre typhoïde de pouvoir affirmer l'efficacité d'une vaccination contre la dysenterie par voie buccale.

Les premières tentatives pour atteindre ce but sont dues à Gabritschewski et Zeitlin (2) et datent de 1905. Zeitlin avala lui-même une émulsion de bacilles dysentériques (culture sur gélose de vingt-quatre heures) chauffée une heure à 60°. Il renouvela l'ingestion à doses progressivement croissantes, à partir de 0 milligr. 2 de corps

(1) *Boll. d'Ist. Sieroter. Milanese*, 1922, 2, p. 275.

(2) *Cent. f. Bakt., Ref.*, 1905, 36.

microbiens jusqu'à 3 milligrammes en sept prises dans l'espace de vingt-huit jours. Il n'en résulta aucun trouble et ni le pouvoir agglutinant, ni le pouvoir bactériolytique de son sérum, ne furent sensiblement accrus.

K. Shiga, de son côté, publia en 1908 (1) les recherches entreprises par lui (et par ses élèves, O. Hida et H. Toyoda) depuis trois ans sur le même sujet. Par ingestion de cultures tuées de son bacille, il avait parfaitement réussi à immuniser des lapins, à ce point qu'une injection intraveineuse ultérieure de 0 c. c. 1 de toxine dysentérique ne produisait plus aucun désordre intestinal; mais ces animaux mouraient pour la plupart après trois à sept jours, avec des phénomènes spinaux (paralysie des membres postérieurs, des membres antérieurs et de la vessie, dyspnée et paralysie cardiaque), tandis que les témoins succombaient en un à deux jours avec de la diarrhée, de l'œdème et des hémorragies de la muqueuse intestinale.

K. Shiga a essayé aussitôt de vacciner ainsi de nombreux sujets dans des asiles d'aliénés où la dysenterie sévit tous les ans et dans quelques localités frappées par des épidémies. Les résultats constatés par lui furent, affirme-t-il, très beaux.

On les ignora sans doute en Europe, car ce ne fut que beaucoup plus tard, après les hécatombes de la grande guerre où la dysenterie intervint comme cause importante de mortalité, surtout parmi les troupes des fronts orientaux, qu'on résolut de faire des essais dans le même sens.

Expérimentalement, en 1908 et 1909, F. Chvostek, puis Ch. Dopter avaient étudié les effets de l'ingestion de bacilles dysentériques tués chez les petits animaux de laboratoire. F. Chvostek (2) immunisa des lapins en leur faisant avaler deux fois, à huit jours d'intervalle, de fortes doses de culture sur gélose de bacilles de Shiga-Kruse. Les résultats furent aussi favorables avec les microbes tués qu'avec les microbes vivants, mais aucune trace d'agglutinines n'apparaissait dans le sérum des animaux ainsi vaccinés *per os*.

Ch. Dopter (3), seul ou avec G. Rapaci (4), réussit également à obtenir l'immunité par voie buccale chez la souris et chez le lapin. Ses expériences montrèrent que, pour la souris, la dose optimum vaccinante est de 5 milligrammes de corps microbiens tués par chauffage, et qu'il faut renouveler les ingestions deux ou trois jours de suite, car une seule dose, fût-elle de 1 ou 2 centigrammes en un

(1) *Saikogaku-Zassi*, 1908, p. 138.

(2) *Wiener klin. Woch.*, 1908, n° 14.

(3) *Soc. de Biol.*, 16 mai 1908; *Ces Annales*, 1909, p. 671.

(4) *Soc. de Biol.*, 1910, p. 32.

seul repas, est incapable de donner l'immunité. Encore celle-ci n'est-elle acquise que vers le dixième ou le douzième jour après la première ingestion, et elle n'excède pas trente jours. Les résultats sont identiques avec les cultures vivantes qui ne donnent la dysenterie au lapin que lorsqu'on en fait ingérer en une seule fois une dose massive.

De ses recherches, Ch. Dopter croyait devoir conclure qu'il n'était pas probable que l'homme pût être vacciné par voie buccale, car il lui faudrait avaler des quantités colossales de culture, soit environ 15 grammes de bacilles par jour pendant trois jours!

En 1918, Besredka (1) reprit l'étude de la question. Il avait constaté qu'en faisant ingérer au lapin des cultures dysentériques tuées, sans qu'il soit indispensable de le sensibiliser préalablement par la bile, on reproduisait le syndrome anatomo-clinique que provoque le virus vivant, et qu'une atteinte légère de la maladie consécutive à un repas de microbes chauffés suffit pour immuniser l'animal contre l'inoculation intraveineuse d'une dose de virus qui tue le témoin en vingt-quatre heures. Il montrait, en outre, que les bacilles introduits directement dans la circulation sanguine ou par voie sous-cutanée s'éliminent par les nodules lymphoïdes intestinaux, exactement comme il arrive pour le bacille typhique et pour le vibrion cholérique. Il confirmait enfin l'absence d'anticorps (agglutinines ou bactériolysines) dans le sérum des animaux vaccinés *per os* et concluait de ses expériences que, chez le lapin et chez la souris, l'ingestion de bacilles dysentériques tués seuls ou, de préférence, mélangés avec de la bile de bœuf, pratiquée une seule fois, ou mieux encore répétée deux fois, confère une immunité active solide, dont il n'est pas encore possible de fixer la durée. « Des essais préliminaires chez l'homme, ajoutait-il, nous ont montré que l'administration par voie buccale de bacilles de Shiga tués ne s'accompagne d'aucune réaction, ni locale ni générale.

Ch. Nicolle et E. Conseil (2) en ont fait récemment la preuve. Ils ont fait ingérer pendant trois jours consécutifs des bacilles chauffés à deux sujets qui ont avalé, quinze et dix-huit jours plus tard, en même temps que deux autres sujets servant de témoins, une émulsion contenant 10 milliards de bacilles de Shiga très virulents, isolés d'un cas récent de dysenterie. Les deux témoins contractèrent une dysenterie typique, qu'on dut traiter par le sérum; les vaccinés ne présentèrent aucun trouble.

(1) *Académie des Sciences*, 1918, **167**, 29 juillet, p. 212; 5 août, p. 242, et *Ces Annales*, mai 1919, p. 301.

(2) *Académie des Sciences*, 13 mars 1922, **174**, p. 724.

Il est donc possible d'immuniser par voie buccale l'homme contre la dysenterie, par ingestion de bacilles de Shiga tués par chauffage. Peut-être même pourrait-on utiliser à cet effet la toxine seule. C'est, du moins, ce qui paraît résulter des recherches de J. Dumas et D. Combiesco (1), qui ont provoqué l'intoxication caractéristique des lapins, avec œdème et hémorragies de la muqueuse intestinale, phénomènes paralytiques atteignant progressivement les membres postérieurs et antérieurs, par l'ingestion, répétée quatre jours de suite, de 10 cent. cubes de filtrat de cultures en bouillon âgées d'une semaine. La moitié environ des animaux résistent après avoir été malades. Ils sont alors vaccinés contre une dose quatre fois mortelle de culture vivante injectée dans les veines.

Mais nous ne sommes pas encore en possession d'une méthode sûrement efficace et inoffensive pour réaliser cette immunité. D'autres expériences sont en cours dans plusieurs foyers de dysenterie bacillaire épidémique. On peut espérer qu'elles conduiront au succès.

III. — Essais de vaccination par voie buccale contre le choléra.

La découverte de l'entérotropisme des vibrions cholériques, que nous devons, ainsi qu'il a été déjà dit, aux travaux de G. Sanarelli, de A. Besredka, de J. Cantacuzène et A. Marie, nous a révélé que les vibrions cholériques vivants, injectés sous la peau, dans le péritoine ou dans les veines, se portent toujours sur la muqueuse de l'intestin grêle, surtout au niveau du jéjunum, et que, sur cette muqueuse, s'exerce une vibriolyse dont l'intensité va de pair avec les phénomènes d'intoxication cholérique. D'où l'explication de ce fait qui paraissait étrange et que les travaux déjà anciens de J. Ferran d'abord, puis de Haïtkine, avaient établi, qu'on peut très bien vacciner contre le choléra intestinal au moyen d'injections sous-cutanées de vibrions vivants ou tués par chauffage à 60°.

J. Cantacuzène et A. Marie nous ont encore appris que c'est d'abord dans l'intestin grêle qu'apparaît la sensibilisatrice spécifique, dès les premières heures qui suivent l'imprégnation de l'organisme par l'antigène cholérique. Il semblerait donc que, dans le cas de l'infection cholérique, la voie d'élection pour introduire les vibrions vaccinants est bien la voie sous-cutanée, et que la pratique actuelle des vaccinations anticholériques ne devrait pas être modifiée.

Pourtant, à la suite des recherches précédemment exposées sur

(1) *Académie des Sciences*, 1922, 175, p. 632.

l'immunisation par voie buccale contre les infections typhiques et dysentériques dues, elles aussi, à des microbes *entérotropes*, on devait se demander s'il ne serait pas possible d'utiliser cette même voie pour l'immunisation contre les vibrions cholérigènes.

S. Masaki (1), dans le laboratoire de Besredka, s'est attaché à l'étude expérimentale de cette question. Après qu'il eut constaté que le lapin et le cobaye sont bien réellement réfractaires à l'ingestion de n'importe quelle dose de vibrions cholériques vivants, il a appliqué à ces animaux sa technique de sensibilisation préalable par la bile de bœuf stérilisée. Il a pu voir que cette « préparation » facilite, chez le lapin, la résorption de l'endotoxine vibronienne et la formation d'agglutinines dans le sang, mais qu'il ne se produit pas d'anticorps préventifs. Les lapins sensibilisés par la bile réagissent à l'ingestion de vibrions vivants. Les fortes doses de culture (deux boîtes de Roux) les tuent en deux semaines. Les doses moyennes (une boîte) les rendent malades pendant quelques jours, et les doses moindres ne déterminent aucun trouble. Seuls les animaux qui se rétablissent après avoir été malades se montrent vaccinés contre l'inoculation d'une dose sûrement mortelle de vibrions dans les veines.

Des expériences ultérieures de E. Glotoff (2) ont confirmé ces faits. L'infection et, partant, l'immunisation ne seraient possibles par voie buccale qu'à la faveur du traitement préalable par la bile ingérée à dose telle qu'on ne peut pas songer, à cause de la grande toxicité de cette substance, à s'en servir pour vacciner le cobaye.

Il y a donc lieu de craindre que, chez l'homme, on éprouve de ce fait de grandes difficultés. Nous savons qu'à l'heure actuelle des essais se poursuivent en Russie, sous la direction de Tarrasséwitch, en vue de comparer l'une à l'autre les méthodes de vaccination par ingestion et par inoculation sous-cutanée de cultures tuées par chauffage. Attendons-en les résultats.

IV. — Essais de vaccination par voie buccale contre diverses autres maladies microbiennes.

A. TUBERCULOSE. — Dès 1906, en même temps que F. Loeffler effectuait ses premières recherches sur l'immunisation *per os* des souris contre le bacille *typhi murium* isolé par lui, j'avais entrepris avec C. Guérin (3) de vacciner les bovidés contre la tuberculose, d'abord

(1) Ces *Annales*, mai 1922, p. 399.

(2) *Soc. de Biol.*, 7 juillet 1923.

(3) *Académie des Sciences*, 142, 11 juin 1906; Ces *Annales*, 1906, p. 623; 1907, p. 404; 1907, p. 525; 1908, p. 689; 1911, p. 625; 1913, p. 162; 1914, p. 329; 1920, p. 553; 1921, p. 561; 1922, p. 665.

par l'ingestion d'une très petite quantité de bacilles tuberculeux avec isolement consécutif des animaux (pour éviter toute réinfection) jusqu'à ce qu'ils ne réagissent plus à la tuberculine ; puis par l'ingestion de bacilles chauffés à 70°, ou dégraissés, ou modifiés par diverses substances chimiques (iode, chlore, glycérine) ; puis enfin par une race particulière de bacille créée par nous au moyen d'une longue série de cultures successives sur pommes de terre cuites dans de la bile de bœuf glycérinée, et ainsi rendue avirulente, même à haute dose, pour les animaux les plus sensibles tels que le singe ou le cobaye. De son côté, Vallée (d'Alfort) effectuait des essais analogues avec un bacille peu virulent d'origine équine.

Il ne peut s'agir de résumer ici les innombrables expériences que nous avons faites et que nous poursuivons encore sur ce sujet. Je les rappelle seulement pour indiquer que, si les résultats que nous avons obtenus ne sont pas encore assez concluants pour justifier l'application à l'espèce humaine d'une méthode de vaccination antituberculeuse qui se montre capable de préserver pendant douze à dix-huit mois les bovidés, pendant environ cinq à six mois les lapins et les cobayes contre les infections artificielles graves, il apparaît cependant qu'on puisse envisager, pour les temps à venir, la possibilité d'immuniser par ingestion de bacilles vivants non tuberculigènes les jeunes enfants, dès après leur naissance, de telle sorte qu'ils échappent, au moins pendant les deux ou trois premières années de leur existence, aux contaminations familiales qui sont, pour eux, presque fatales à cet âge. Cet espoir est fondé non seulement sur les faits expérimentaux que nous avons déjà pu établir, mais aussi sur la connaissance que nous avons acquise de la pathogénie de la tuberculose et principalement du rôle de l'absorption par les muqueuses buccales et intestinales dans la genèse de cette infection.

B. MICROBES PYOGÈNES. — Il est aujourd'hui bien connu que le staphylocoque s'introduit fréquemment dans la circulation sanguine à partir de l'intestin. C'est l'origine habituelle des poussées de furonculose et d'ostéomyélite. La démonstration en fut faite en 1907 dans un travail que j'ai publié en collaboration avec G. Petit (1). Ayant fait ingérer à de jeunes lapins à jeun des cultures en bouillon d'un staphylocoque virulent, nous constatâmes que le microbe se retrouvait dans le sang six heures après le repas infectant et que des lésions caractéristiques d'ostéomyélite pouvaient être ainsi provoquées, soit spontanément, soit à la suite d'un traumatisme. J. Cour-

(1) *Soc. de Biol.*, 26 janvier 1907, p. 149.

mont et A. Rochaix (1) ont essayé de vacciner des lapins en introduisant dans leur gros intestin, par injections rectales répétées à plusieurs reprises de cultures en bouillon de sept à huit jours, chauffées à 70° pendant quatre heures. L'épreuve était faite, vingt à cent vingt jours après la fin du traitement préventif, par injection intraveineuse de culture virulente. Ils obtinrent seulement un retard dans l'évolution de la maladie ainsi provoquée.

Les mêmes expérimentateurs avaient été plus heureux avec le bacille pyocyanique. Ils ont pu immuniser par voie rectale avec des cultures de ce microbe tuées par chauffage.

A. Tchichkine (2) n'a obtenu aucun effet protecteur de l'ingestion, par le lapin, de cultures de streptocoques chauffées une heure de 45 à 60°.

C. PESTE. — Mercatelli (3), en 1902, avait eu l'idée d'utiliser la voie gastrique pour immuniser les cobayes en faisant absorber à ces animaux, avec leur nourriture ou par une sonde stomachale, une seule dose de culture en bouillon chauffée une heure à 60°. Les résultats ne furent positifs que dans quelques cas. Giuseppe Fornario (4) reprit ces essais en 1907 sur le cobaye et le lapin. Par ingestion répétée deux fois, à dix ou quatorze jours d'intervalle, de cultures sur gélose émulsionnées et chauffées quatre-vingt-dix minutes à 53°, — température qui ne suffit pas à détruire tous les germes, mais qui réduit considérablement leur vitalité, — il réussit à protéger les deux tiers de ses animaux contre l'inoculation sous-cutanée d'une dose de culture virulente sûrement mortelle pour les témoins.

Plus récemment, en utilisant un bacille pesteux émulsionné dans l'huile et chauffé deux fois à 60° pendant une heure, F. Noc (5) a relaté une expérience qu'il fit à Dakar sur un singe (*Papio sphinx*). Il avait fait ingérer à cet animal 60 cent. cubes d'émulsion correspondant à 3 boîtes de Roux. L'ayant éprouvé seize jours après par scarification de la peau, en même temps qu'un témoin qui mourut en quatre jours, le singe vacciné fut légèrement malade et guérit; mais, douze jours plus tard, ayant absorbé une nouvelle dose de vaccin huileux, il succomba avec des bacilles pestueux dans le sang.

Marcel Léger et A. Baury (6), inspirés par les travaux de Besredka, essayèrent de sensibiliser par ingestion préalable de bile leurs

(1) *Acad. des Sciences*, 152, 1911, p. 131; 156, 1913, p. 572.

(2) *Ces Annales*, 1906, p. 499.

(3) *Riforma medica*, 1902, 3, p. 362.

(4) *Soc. de Biol.*, 11 janvier 1908, p. 24, et *Ces Annales*, mai 1908, p. 353.

(5) *Soc. de Biol.*, 15 juillet 1922, p. 493.

(6) *Ibid.*, 8 juillet 1922, p. 444.

animaux d'expériences (cobayes, lapins et singes cynocéphales). Leurs premières constatations furent favorables. Ils poursuivent actuellement leurs essais.

D. DIPHTÉRIE. — M. Breton et L. Petit (1) ont tenté, en 1908, de conférer au cobaye l'immunité contre la diphtérie par ingestion et par injection rectale de bacilles chauffés quinze minutes à 60° ou trente minutes à 50°. L'ingestion de 1 cent. cube d'émulsion microbienne, répétée 4 fois à huit jours d'intervalle, fit apparaître des anticorps dans le sérum et les animaux résistèrent à l'inoculation sous-cutanée de 1/200° de cent. cube d'une toxine qui tuait les témoins à 1/500°. Ils n'eurent même pas d'œdème local. Les injections dans le rectum se montrèrent beaucoup moins régulièrement efficaces.

E. PESTE BOVINE. — F. S. H. Baldrey (2), en 1911, avait espéré pouvoir vacciner les bovidés contre la peste bovine en leur faisant absorber, avec la nourriture, des matières virulentes. Il n'y réussit pas. Mais récemment Van Saceghem (3) dit y être parvenu en administrant en breuvage, en une seule fois, après dilution à 40 p. 100 dans l'eau froide, et à la dose d'un litre environ du mélange, des matières fécales d'un animal qui a reçu depuis quatre jours, sous la peau, une injection de sang virulent et de sérum antipestique. Ce n'est que le quatrième jour que les matières auraient le degré de virulence qui permet de les utiliser comme vaccin. Avant ce délai elles ne seraient pas encore actives, et ensuite elles ne le seraient plus. On doit souhaiter que cette affirmation soit contrôlée.

Conclusions.

Le lecteur qui a bien voulu suivre cet exposé de l'état actuel de nos connaissances sur l'immunisation par voie buccale contre les maladies microbiennes n'a sans doute pas trouvé, dans les faits expérimentaux ou cliniques que nous avons pu recueillir, des preuves suffisamment convaincantes de la valeur pratique de cette méthode, même en ce qui concerne les fièvres typhoïde et paratyphoïdes, à propos desquelles elle a été le mieux étudiée. Pour qu'on puisse porter un jugement sur son efficacité, il est nécessaire de multiplier les expériences et de les poursuivre comparativement

(1) *Ibid.*, 9 mai 1908, p. 813.

(2) *Journ. of trop. vel. Sc.*, 1911, 6, n° 2.

(3) *Bull. Acad. roy. de Med. de Belgique*, 5^e série, 3, 26 mai 1923.

avec le procédé de vaccination par injection sous-cutanée. Celui-ci a fait ses preuves, sauf pour la dysenterie, où nous avons vu qu'il est inapplicable.

En tout état de cause, tout au moins pour ce qui concerne les infections typhiques et cholériques, il subsistera parce que, lorsque nous introduisons *tel* nombre de corps microbiens sous la peau d'un sujet, nous savons qu'ils sont tous absorbés, tandis que nous ne trouverons jamais cette certitude dans la vaccination par voie buccale.

Mais il est évident que, s'il est prouvé dans l'avenir que nous pouvons, sans trop de mécomptes, utiliser cette dernière, il sera indiqué d'en faire usage dans les circonstances, assez nombreuses, où l'inoculation sous-cutanée présente des inconvénients, parfois même quelque danger. Si bénigne soit-elle, une piqûre, une injection hypodermique est une opération qu'on préfère éviter quand il est possible de s'y soustraire. Elle entraîne des réactions locales quelquefois douloureuses, souvent accompagnées de fièvre, et elle nécessite l'intervention du médecin. On sera donc tenté de recourir, dans bien des cas, à l'ingestion, qu'on croit plus généralement inoffensive.

Il n'est cependant pas sûr que cette innocuité soit absolue, car ce que nous savons des vaccinations par voie buccale chez les animaux nous montre qu'elles n'ont d'efficacité qu'à la condition qu'on fasse ingérer à *plusieurs reprises*, et jamais une seule fois, une grande quantité de corps microbiens, et cette quantité doit être assez voisine de la dose toxique.

Ayons donc la prudence d'attendre d'être mieux éclairés avant d'introduire dans la prophylaxie courante une méthode nouvelle, assurément pleine d'intérêt, mais qui pourrait être décevante si, dès à présent, nous lui faisions aveuglément confiance.

Le Gérant : G. MASSON.